土壤脲酶（Solid-Urease，S-UE）测定试剂盒说明书

（货号：G0301W 微板法 48 样）

一、产品简介：

土壤中的脲酶主要来源于微生物和植物，它仅能水解土壤中的尿素，最终产物是氨和碳酸。土壤脲酶活性与土壤的微生物数量、有机物质含量、全氮和速效氮含量呈正相关。常用土壤脲酶活性表征土壤的氮素状况。本试剂盒采用靛酚蓝比色法：即脲酶水解尿素产生NH_3-N，其在强碱性介质中与次氯酸盐和苯酚反应，生成水溶性染料靛酚蓝，该物质在578nm有最大光吸收，其深浅与溶液中的NH_3-N含量呈正比，进而得出土壤脲酶活力大小。

二、试剂盒组分与配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	粉剂 mg×1 瓶	4℃保存	临用前加入 11mL 蒸馏水，充分溶解备用，用不完的试剂仍 4℃保存；
试剂二	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体 6mL×1 瓶	4℃保存	避光保存。
试剂四	液体 3mL×1 瓶	4℃保存	
试剂五	A：液体 3.5mL×2 瓶 B：液体μL×1 支	4℃保存	临用前取 30μL 的 B 液进一瓶 A 液中，混匀后作为试剂五使用。混匀后的试剂五一周内用完。
标准品	液体 1 mL×1 支	4℃保存	若重新做标曲，则用到该试剂。

三、所需的仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、水浴锅、离心机、可调式移液器、**甲苯**和蒸馏水。

四、土壤脲酶（S-UE）活性测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本的制备：

取新鲜土样风干或者 37 度烘箱风干，先粗研磨，过 40 目筛网，备用。

【注】：土壤风干，减少土壤中水分对于实验的干扰；

2、上机检测：

① 培养：取 EP 管依次加入：

试剂名称（μL）	测定管	对照管
土样(g)	0.1	0.1
甲苯	40	40
振荡混匀，室温放置 15min		
试剂一	200	
试剂二	400	600
混匀，放入 38℃水浴锅或恒温培养箱中孵育 24h		
蒸馏水（38℃）	360	360
混匀，12000rpm，25℃离心 10min，取上清液。		

② 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 578nm。

③ 显色反应：在 96 孔板中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管	对照管
上清液	15	15
蒸馏水	45	45
试剂三	60	60
试剂四	30	30
试剂五	60	60
混匀，37℃放置 20min 后，于 578nm 读取吸光值 A，ΔA=A 测定管-A 对照管（每个样本做一个自身对照）。		

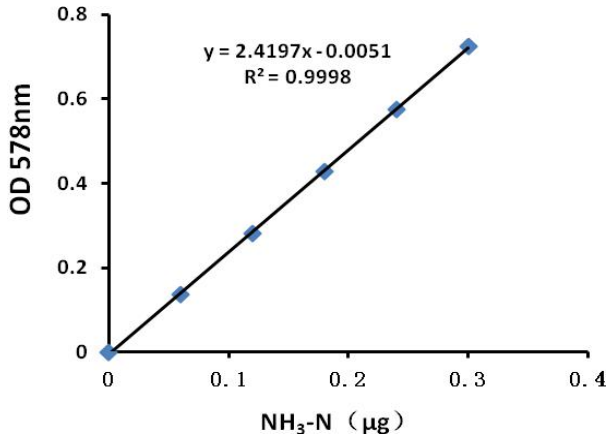
【注】1. 试剂三和四和五需分开加，不能事先混匀。

2. 若ΔA 值较小，可增加取样质量 W（如 0.2g 或更多）或在显色反应阶段增加上清液量 V1(如增至 30μL，则蒸馏水体积相应减少)；则改变后的 W 和 V1 需代入计算公式重新计算。

3. 若 A 测定的值大于 1.5，可在显色反应阶段减少上清液的量 V1(如减至 5μL，则蒸馏水体积相应增加)；则改变后的上清液体积 V1 需代入计算公式重新计算。

五、结果计算：

1、标准曲线：y=2.4197x - 0.0051；x 为标准品质量（μg），y 为吸光值ΔA 。



2、土壤脲酶活性定义：每天每克土样中产生 1μg 的 NH_3-N 定义为一个酶活力单位。

土壤脲酶活力(μg/d/g 土样)=(ΔA+0.0051)÷2.4197×(V÷V1)÷W÷T=27.6×(ΔA+0.0051)÷W

V---反应总体积，1000μL； V1---显色反应中上清液体积，15μL；

T---反应时间，24h=1d； W---土壤样本实际取样质量，g。

附：标准曲线制作过程：

1 把标准品母液（1mg/mL），用蒸馏水稀释成以下浓度梯度的标准品：0,4,8,12,16,20.μg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。

2 在显色反应阶段，按照测定管加样表操作，依据结果即可制作标准曲线。